



Μικροβιολογία Τροφίμων

Μάθημα 3^ο



Κεφάλαιο 2

Μικροβιακή ανάπτυξη, Επιβίωση & Θανάτωση στα Τρόφιμα



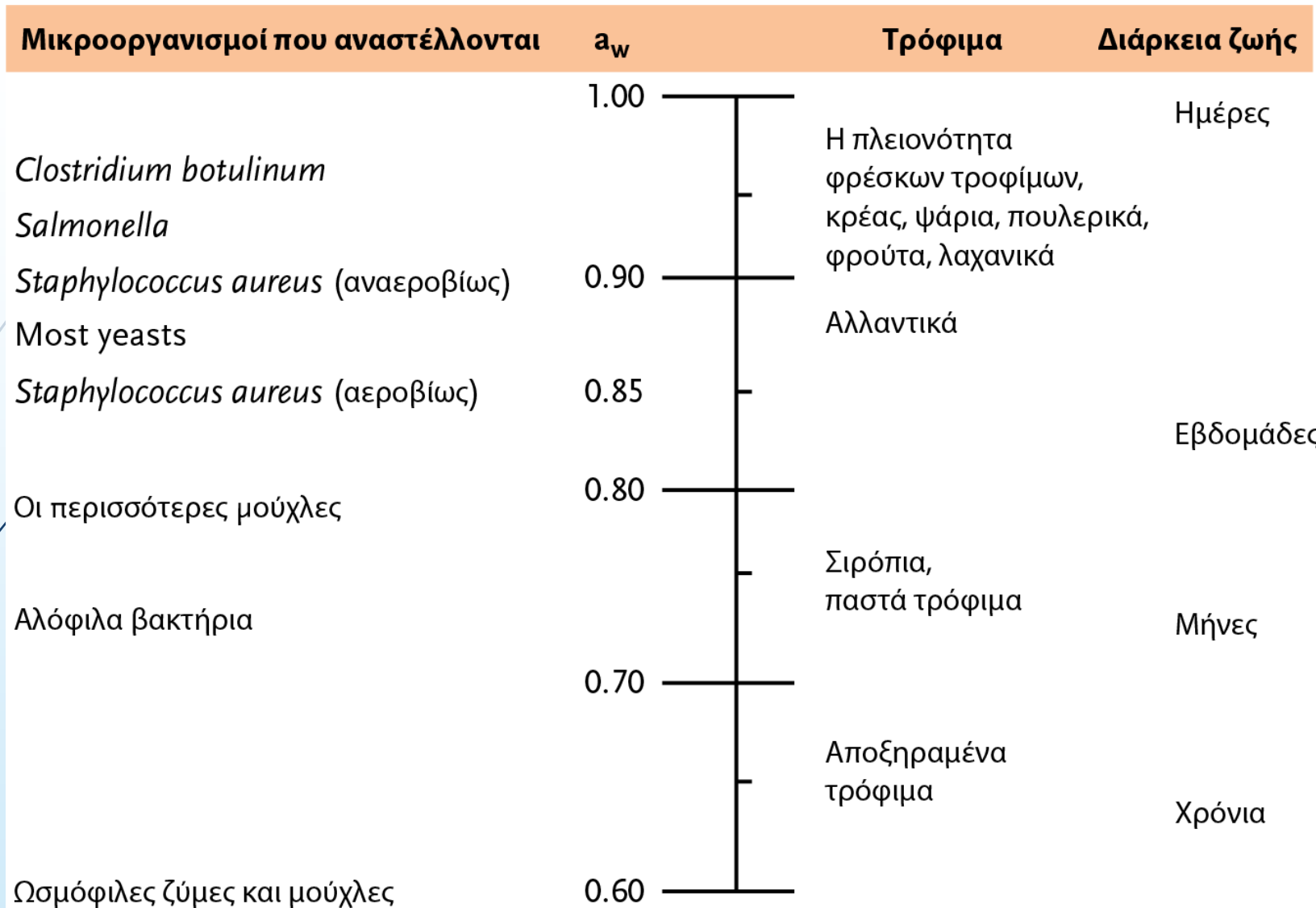
Ενδογενείς παράγοντες

pH, ενεργότητα νερού

Πίνακας 2.7 Ελάχιστη απαίτηση σε a_w για την ανάπτυξη τροφογενών μικροβίων στους 25°C*

Ομάδες μικροοργανισμών	Ελάχιστη απαίτηση σε a_w
Τα περισσότερα βακτήρια	0,91-0,88
Οι περισσότερες ζύμες	0,88
Συνηθισμένοι μύκητες	0,80
Αλόφιλα βακτήρια	0,75
Ξηροάντοχοι μύκητες	0,71
Ξηρόφιλοι μύκητες και οσμώφιλες ζύμες	0,62-0,60

* Ανατύπωση από Farkas J, p. 567–591, in Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, ed, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2nd ed, ASM Press, Washington, DC, 2001.



Απεικόνιση της επίδρασης της a_w στην διάρκεια ζωής και στην μικροβιακή ανάπτυξη



Εξωγενείς παράγοντες

Θερμοκρασία & η σύνθεση των αερίων


Πίνακας 2.8 Αλληλεπιδράσεις του pH και της a_w στη σταθερότητα των τροφίμων

Συνδυασμός pH και a_w	Προτεινόμενη θερμοκρασία συντήρησης(°C)	Κατηγοριοποίηση τροφίμων
pH >5,0 και a_w >0,95	<4	Αλλοιώνονται εύκολα
pH 5,0–5,2 και a_w 0,90–0,95	<10	Αλλοιώσιμα
pH <5,2 και a_w <0,95 ή pH <5,0 ή a_w <0,90	Μπορεί να μην απαιτείται ψύξη	Σταθερά στο ράφι



Παρεμποδιστές

Θερμοκρασία & η σύνθεση των αερίων



Κεφάλαιο 3

Τα Σπόρια και η Σημασία Τους

Προκαρυωτικό κύτταρο

Ενδοσπόρια

- ✓ Αφυδατωμένες αδρανείς κυτταρικές μορφές.
- ✓ Μηχανισμός προστασίας των βακτηρίων σε αντίξοες συνθήκες.
Βρέθηκαν βακτήρια ηλικίας 7500 ετών στον πυθμένα λιμνών και ηλικίας 25 – 45 εκατομμυρίων ετών στο πεπτικό σύστημα απολιθωμένων εντόμων.
- ✓ Όταν βρεθούν σε ευνοϊκές συνθήκες αναπτύσσονται.
- ✓ Η διαδικασία σχηματισμού σπορίων λέγεται σποριογένεση ή σποριοποίηση
- ✓ Η διαδικασία μετατροπής του ενδοσπορίου σε βλαστική κατάσταση (μπορεί να πολλαπλασιαστεί) ονομάζεται **βλάστηση**.

Σπορογόνα που συνδέονται με τη βιομηχανία τροφίμων και μη

Πίνακας 3.1 Γένη Gram θετικών βακτηρίων που σχηματίζουν σπόρια

Γένος	Χαρακτηριστικά
<i>Alicyclobacillus</i>	Θερμόφιλα οξυάντοχα σπορογόνα βακτήρια τα οποία επιβιώνουν από διεργασίες παστερίωσης και προκαλούν αλλοίωση στους χυμούς
<i>Amphibacillus</i>	Προαιρετικά αναερόβια σπορογόνα βακτήρια που αποικοδομούν την ξυλάνη
<i>Bacillus</i>	Αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια ραβδόμορφα σπορογόνα βακτήρια
<i>Clostridium</i>	Αναερόβια ραβδόμορφα σπορογόνα βακτήρια
<i>Desulfotomaculum</i>	Θειοαναγωγικά σπορογόνα βακτήρια
<i>Filobacillus</i>	Αλοφιλικά αερόβια σπορογόνα βακτήρια
<i>Geobacillus</i>	Θερμόφιλα σπορογόνα βακτήρια σχήματος ράβδου
<i>Sporolactobacillus</i>	Σπορογόνοι λακτοβάκιλλοι
<i>Sulfolobus</i>	θειο-οξειδωτικά θερμόφιλα οξυάντοχα σπορογόνα βακτήρια

Θερμοανθεκτικότητα σπορογόνων σημαντικών για τα τρόφιμα

Πίνακας 3.2 Θερμοανθεκτικότητα σπορογόνων σημαντικών για τα τρόφιμα^α

Οργανισμός	Κατά προσέγγιση τιμή D (σε λεπτά) στους 100°C
Σπόρια σημαντικά για τη δημόσια υγεία	
Τύποι A και B της Ομάδας I του <i>Clostridium botulinum</i>	7-30
Τύπος E του <i>C. botulinum</i>	0.01
<i>Bacillus cereus</i>	3-200
<i>Clostridium perfringens</i>	0.3-18
Μεσόφιλοι αερόβιοι	
<i>Bacillus subtilis</i>	7-70
<i>Bacillus licheniformis</i>	13.5
<i>Bacillus megaterium</i>	1
<i>Bacillus polymyxa</i>	0.1-0.5
<i>Bacillus thermoacidurans</i>	2-3
Θερμόφιλοι αερόβιοι	
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	100-1.600
<i>Bacillus coagulans</i>	20-300
Αναερόβιοι Μεσόφιλοι	
<i>Clostridium sporogenes</i>	80-100
Αναερόβιοι θερμόφιλοι	
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	≤480
<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>	400

^α Πηγή: P. Setlow και E. A. Johnson, σελ. 33-70, στο M. P. Doyle, L. R. Beuchat, και T. J. Montville (ed.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2^η έκδ. (ASM Press, Washington, D.C., 2001.)

Πίνακας 3.3 Αλλοίωση κονσερβοποιημένων τροφίμων από σπορογόνους οργανισμούς*

Είδος αλλοίωσης ή σπορογόνου οργανισμού	pH	Κύριοι υπεύθυνοι σπορογόνου οργανισμοί	Προβλήματα που προκαλούνται λόγω της αλλοίωσης
Επίπεδη Οξίνιση (Flat-sour)	$\geq 5,3$	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>B.stearothermophilus</i>	Καθόλου αέρια. Μειωμένο pH. Πιθανή μη φυσιολογική μυρωδιά και θολό υγρό (θόλωμα)
Θερμόφιλα αναερόβια	$\geq 4,8$	<i>C. thermosaccharolyticum</i>	Διόγκωση της κονσέρβας και πιθανή διάρρηξη. Οι αναερόβιοι οργανισμοί και τα προϊόντα τους παράγουν μια οσμή όξινη, ζύμωσης ή βουτυρικού οξέος. Χαρακτηριστικά τρόφιμα είναι το σπανάκι και το καλαμπόκι.
Θειοαναγωγικά αλλοιογόνα	$\geq 5,3$	<i>D. nigrificans</i> , <i>Clostridium bifermentans</i>	Παράγεται υδρόθειο, προσδίδοντας οσμή κλούβιου αυγού. Το ίζημα θειούχου σιδήρου δίνει μια σκούρα όψη. Χαρακτηριστικά τρόφιμα είναι το καλαμπόκι, τα μπιζέλια.
Σηπτικά αναερόβια	$\geq 4,8$	<i>Clostridium sporogenes</i>	Άφθονα αέρια. Μυρωδιά σαπίλας. Συχνά το pH αυξάνεται. Χαρακτηριστικά τρόφιμα είναι το καλαμπόκι, το σπαράγγι.
Ψυχρότροφα Κλωστρίδια	$\geq 4,6$		Αλλοίωση σε κρέατα συσκευασμένα υπό κενό και συντηρούμενα υπό ψύξη. Παραγωγή αερίου, δυσάρεστη γεύση και οσμή, αποχρωματισμός.

Πίνακας 3.3 Αλλοίωση κονσερβοποιημένων τροφίμων από σπορογόνους οργανισμούς*

Είδος αλλοίωσης ή σπορογόνου οργανισμού	pH	Κύριοι υπεύθυνοι σπορογόνου οργανισμοί	Προβλήματα που προκαλούνται λόγω της αλλοίωσης
Αερόβιοι σπορογόνου οργανισμοί	≥4,8	<i>Bacillus</i> spp.	Συνήθως δεν υπάρχουν αέρια εκτός από την περίπτωση των παστών κρεάτων. Πήξη του γάλακτος. Χαρακτηριστικά τρόφιμα είναι το γάλα, τα κρέατα, τα τεύτλα
Βουτυρικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί	≥4,0	<i>C. butyricum</i> , <i>Clostridium tertium</i>	Αέρια. Οσμή οξικού ή βουτυρικού. Χαρακτηριστικά τρόφιμα είναι οι τομάτες, τα μπιζέλια, οι ελιές, τα αγγούρια.
Όξινη αλλοίωση	≥4,2	<i>B. thermoacidurans</i> , βουτυρικά αναερόβια Κλωστρίδια(προαιρετικά)	Επίπεδη οξίνιση (<i>Bacillus</i>) ή παραγωγή αερίων (βουτυρικά αναερόβια Κλωστρίδια). Η δυσάρεστη οσμή εξαρτάται από τον οργανισμό. Συνηθισμένα τρόφιμα είναι οι τομάτες, τα προϊόντα τομάτας, και τα φρούτα.
	≥4	<i>A. acidoterrestris</i>	Επίπεδη οξίνιση με άσχημη γεύση. Πιο συνηθισμένη σε χυμούς φρούτων και όξινα λαχανικά, ενώ έχει αναφερθεί ότι προκαλεί αλλοίωση και στο ice tea (παγωμένο τσάι).

* Πηγή: Setlow P, Johnson EA, p. 33–68, in Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (ed), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 3^η έκδοση, ASM Press, Washington, DC, 2007.



Κεφάλαιο 5

Ταχείες και Αυτοματοποιημένες Μικροβιακές Μέθοδοι

Ευαισθησία & Εξειδίκευση μεθόδου

- ✓ Η ευαισθησία ορίζεται ως η ικανότητα μιας μεθόδου να εντοπίζει σωστά τα άτομα που πράγματι πάσχουν (αληθώς θετικά)

$$\text{Ευαισθησία} = (p \cdot 100) / (p + \text{αριθμός ψευδών αρνητικών}),$$

όπου p είναι ο αριθμός των αληθώς θετικών

- ✓ Η εξειδίκευση ορίζεται ως η ικανότητα μιας μεθόδου να εντοπίζει σωστά τα άτομα που δεν πάσχουν (αληθώς αρνητικά)

$$\text{Εξειδίκευση} = (n \cdot 100) / (n + \text{αριθμός ψευδός θετικών}),$$

όπου n είναι ο αριθμός των αληθώς αρνητικών

Ευαισθησία για τους μικροοργανισμούς που προκαλούν ασθένειες το όριο είναι:

<1 κύτταρο/25g τροφίμου.

Επιλογή μεθόδου ανίχνευσης

Η Επιλογή μεθόδου ανίχνευσης εξαρτάται από:

- ✓ απαιτούμενο χρόνο ολοκλήρωσης
- ✓ Ευαισθησία
- ✓ Ταχύτητα επεξεργασίας δείγματος
- ✓ Ακρίβεια
- ✓ Κόστος
- ✓ Σύμφωνη με τους διεθνείς κανόνες-AOAC International

Πίνακας 5.1 Αντιπροσωπευτικά βιοχημικά τεστ πλήρως ή μερικώς αυτοματοποιημένα

Μικροοργανισμοί	Σύστημα	Κατασκευαστής	Ταχείες Μέθοδοι που βασίζονται σε Παραδοσιακές Μεθόδους		
Gram αρνητικά βακτήρια	Vitek MS BacT/ALERT 3D Microlog GEN III Omnilog	bioMérieux Biolog			
Gram θετικά βακτήρια	Vitek MS BacT/ALERT 3D Microlog GEN III Omnilog	bioMérieux Biolog	Coliforms	Bactometer	bioMérieux
				MICRO-ID O.B.I.S. Kits	Remel
Αναερόβιοι	IDS RapID BBL Crystal	Remel Becton Dickinson	<i>Listeria</i>	Microbact Listeria RapID API	bioMérieux
			<i>Streptococci</i>	RapID STR	Remel
<i>Enterobacteriaceae</i>	API MICRO-ID RapID Microbact GND BBL Crystal	bioMérieux Remel Becton Dickinson	<i>Camylobacter</i>	API O.B.I.S. Kits SimPlate	bioMérieux Remel BioControl
			<i>Staphylococcus aureus</i>	RapID	Reemel
			<i>Salmonella</i>	O.B.I.S. Kits	Remel
			<i>E. coli</i>	BactiCard	Remel

ΜΕΘΟΔΟΙ ISO ΓΙΑ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ή ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΠΡΟΤΥΠΟ		ΜΕΘΟΔΟΣ	ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ
<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1:2017	Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> and of <i>Listeria</i> spp. — Part 1: Detection method	Ανίχνευση	<u>ΘΕΤΙΚΟ/ ΑΡΝΗΤΙΚΟ</u>
	ISO 11290-2:2017	Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> and of <i>Listeria</i> spp. — Part 2: Enumeration method	Καταμέτρηση	<u>ΤΙΜΗ</u>
<i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579:2002	Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of <i>Salmonella</i> spp.	Ανίχνευση	<u>ΘΕΤΙΚΟ/ ΑΡΝΗΤΙΚΟ</u>
<i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2:2001	Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive <i>Escherichia coli</i> — Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide	Καταμέτρηση	<u>ΤΙΜΗ</u>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ISO 6888-1:1999	Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (<i>Staphylococcus aureus</i> and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium	Καταμέτρηση	<u>ΤΙΜΗ</u>

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ *L. monocytogenes* ISO 11290-1:2017

ΗΜΕΡΑ

ΣΤΑΔΙΟ

1^η

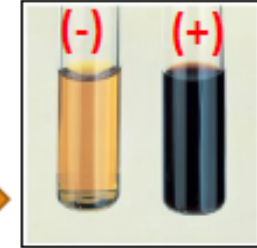
1^{ος} Εμπλουτισμός

- Προσθήκη 25 g ή 25 mL δείγματος σε 225 mL Half Fraser Broth (ΑΡΑΙΩΣΗ 1:10).
- Επώαση στους $30 \pm 1^\circ\text{C}$ για 24-26 h.

2^η

2^{ος} Εμπλουτισμός
(επιλεκτικός)

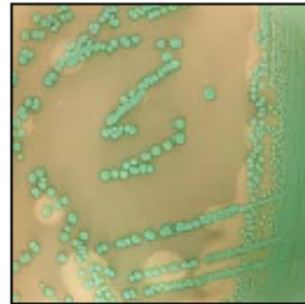
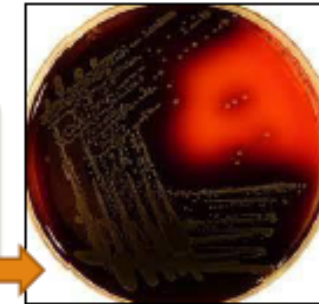
- Προσθήκη 0.1 mL καλλιέργειας σε 10 mL Fraser Broth.
- Επώαση στους $37 \pm 1^\circ\text{C}$ για 24 ± 2 h.



3^η

Γραμμική εξάπλωση

- Εξάπλωση σε επιλεκτικό υλικό Palcam και ALOA agar 30°C ή 37°C για 24-48 h.



4^η

5^η

6^η

Επιβεβαίωση

- Έλεγχος 1 ή περισσότερων ύποπτων αποικιών σε βιοχημικά τεστ:
- Κινητική (motility test)
- Αιμόλυση (hemolysis test)
- Ζύμωση σακχάρων (μαννιτόλη, ραμνόζη, ξυλόζη)

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ *L. monocytogenes* ISO 11290-1:2017

ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

Έλεγχος 1 ή περισσότερων ύποπτων αποικιών σε βιοχημικά τεστ:

- Κινητική (motility test) → **ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΥΠΟΠΤΗΣ ΑΠΟΙΚΙΑΣ ΜΕ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΚΙΔΑ ΣΕ ΗΜΙΡΕΥΣΤΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ →**

ΕΠΩΑΣΗ ΣΤΟΥΣ 28°C.

!!! Η ΛΙΣΤΕΡΙΑ ΔΕΝ ΣΥΝΘΕΤΕΙ ΜΑΣΤΙΓΙΑ ΣΤΟΥΣ 37°C.

- Αιμόλυση (hemolysis test)



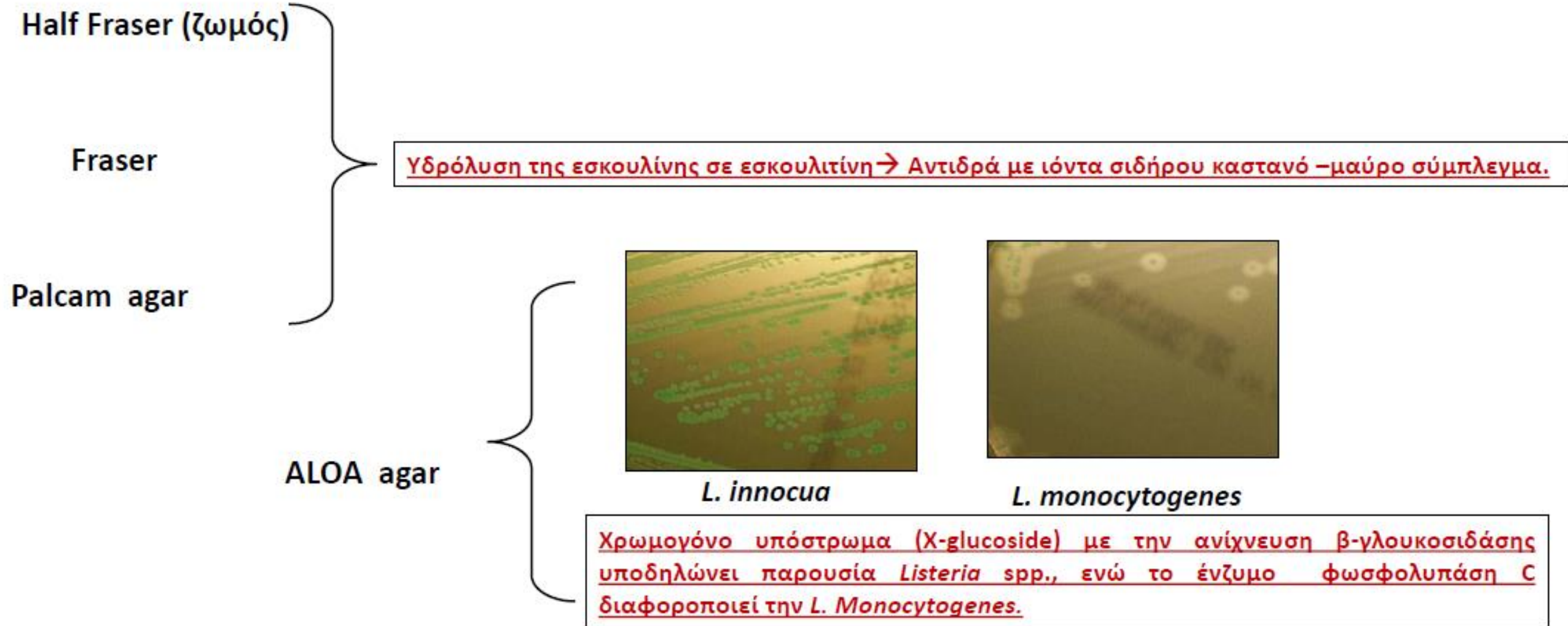
- Ζύμωση σακχάρων (μαννιτόλη, ραμνόζη, ξυλόζη)

	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. grayi</i>
β-hemolysis	+	-	+	+	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	-
Carbohydrate fermentation	Rhamnose	+	+/-	-	-	+/-
	Mannitol	-	-	-	-	+
	Xylose	-	-	+	+	-
	Dextrose	+	+	+	+	+

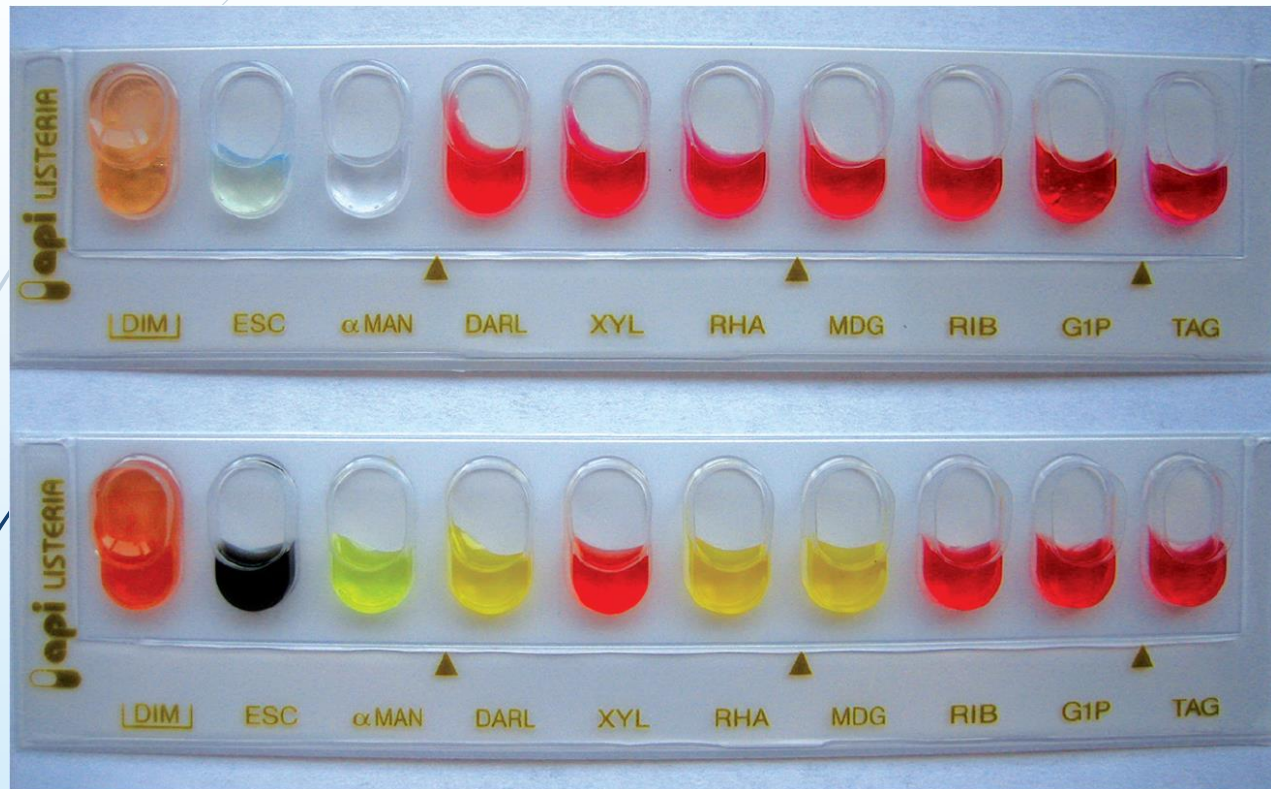
Source: Adapted from [19, 20].

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ *L. monocytogenes* ISO 11290-1:2017

ΧΗΜΙΚΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ → ΧΡΩΜΑΤΙΚΗ ΑΛΛΑΓΗ ΚΑΙ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ Ή ΑΠΟΙΚΙΑΣ



Τεστ API *Listeria*



Το τεστ API *Listeria* είναι ένα παράδειγμα μιας γρήγορης μεθόδου που βασίζεται σε παραδοσιακές μεθόδους. Τα βοηθία (ή πηγαδάκια) χρησιμεύουν ως δοκιμαστικοί σωλήνες στα οποία πραγματοποιούνται βιοχημικές αντιδράσεις. Με βάση την αντίδραση, δημιουργείται ένας κωδικός αριθμός που στη συνέχεια χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του είδους *Listeria*.

Πίνακας 5.2 Αντιπροσωπευτικά σύντομα τεστ με εξειδικευμένα υποστρώματα για την ανίχνευση βακτηρίων σε τρόφιμα

Μικροοργανισμός	Εμπορική ονομασία	Τρόπος ανάλυσης ^a	Κατασκευαστής
<i>E. coli</i>	Peel Plate	Θρεπτικό υπόστρωμα	Charm Sciences
	Fast Phage PA	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	REBECCA Agar	Θρεπτικό υπόστρωμα	bioMérieux
	Chromogenic Media	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	AquaCHROM ECC	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	CHROMagar	Θρεπτικό υπόστρωμα	Biolog
	NeoFilm	Αφυδατωμένο υπόστρωμα σε φιλμ	Neogen
	Soleris	Θρεπτικό υπόστρωμα	
BioLumix	Φθορισμό		
<i>Coliforms</i>	Peel Plate	Θρεπτικό υπόστρωμα	Charm Sciences
	Fast Phage PA	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	AquaCHROM ECC	Θρεπτικό υπόστρωμα	CHROMagar
	CHROMagar	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	Rambach	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	Soleris	Θρεπτικό υπόστρωμα	Neogen
	NeoFilm	Αφυδατωμένο υπόστρωμα σε φιλμ	
	Colitag	Θρεπτικό υπόστρωμα	
<i>Salmonella</i>	CHROMagar	Θρεπτικό υπόστρωμα	CHROMagar
	RambaQUICK	Θρεπτικό υπόστρωμα	bioMérieux
	SM ID	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	ASAP Agar	Θρεπτικό υπόστρωμα	Biolog
	Chromogenic Media	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	Petrifilm	Αφυδατωμένο υπόστρωμα σε φιλμ	
	BioLumix	Φθορισμό	3M
		Neogen	

Συνεχίζεται...

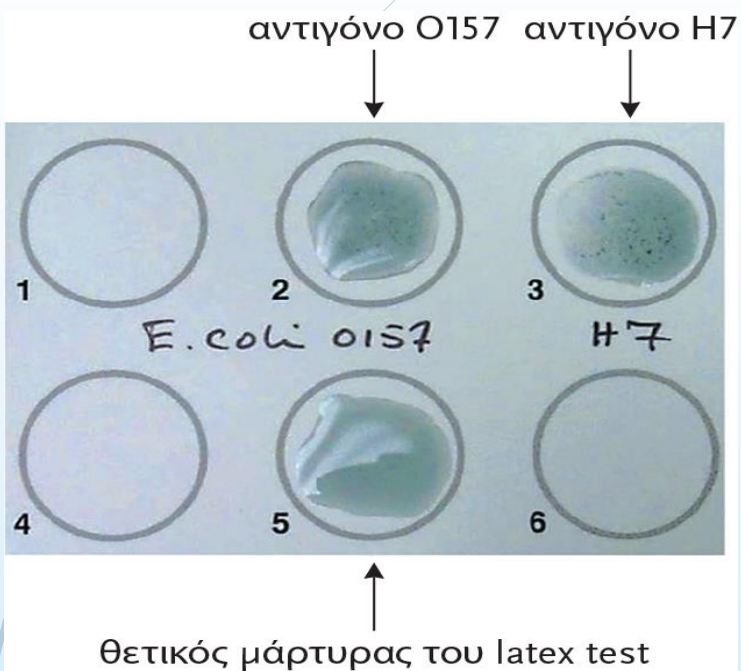
Δίσημα

Πίνακας 5.2 Αντιπροσωπευτικά σύντομα τεστ με εξειδικευμένα υποστρώματα για την ανίχνευση βακτηρίων σε τρόφιμα

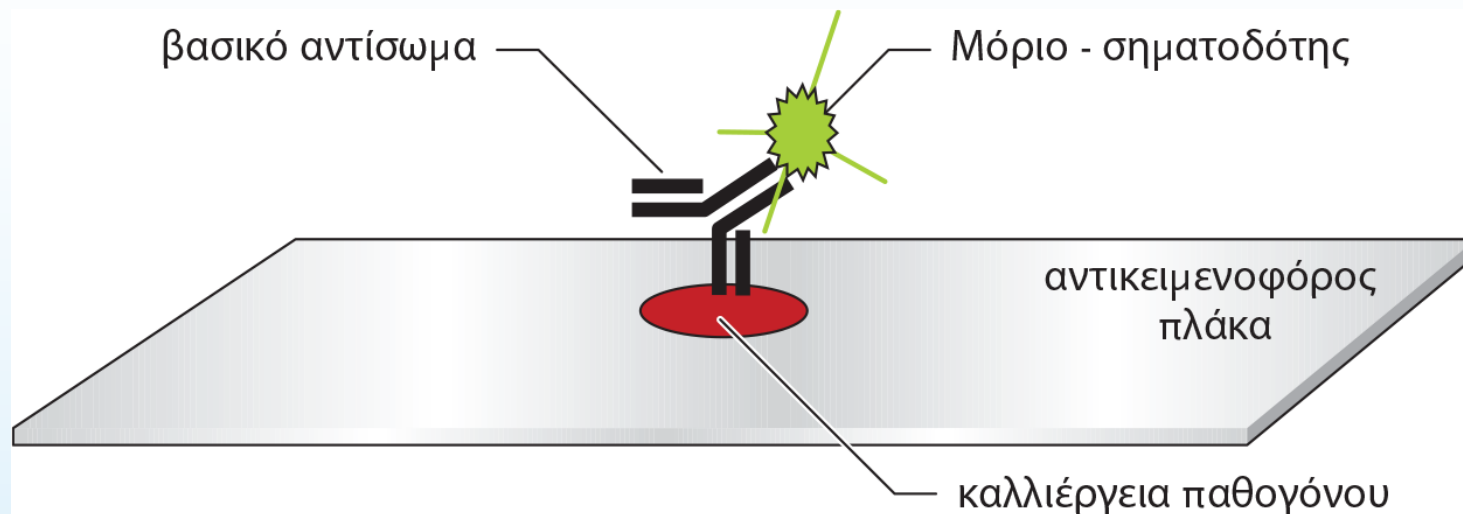
Μικροοργανισμός	Εμπορική ονομασία	Τρόπος ανάλυσης ^a	Κατασκευαστής
<i>Enterobacteriaceae</i>	Petrifilm Pathogel REBECCA Agar	Αφυδατωμένο υπόστρωμα σε φιλμ MUG-X-GAL Θρεπτικό υπόστρωμα	3M Charm Sciences bioMérieux
<i>Staphylococci</i>	Microdase Disk Bactistaph kit Novobiocin Disk Soleris	Θρεπτικό υπόστρωμα Θρεπτικό υπόστρωμα Θρεπτικό υπόστρωμα Θρεπτικό υπόστρωμα	Remel Neogen
<i>S.aureus</i>	Petrifilm CHROMagar BioLumix	Αφυδατωμένο υπόστρωμα σε φιλμ Θρεπτικό υπόστρωμα Φθορισμό	3M CHROMagar Neogen
<i>Bacillus cereus</i>	BACARA agar	Θρεπτικό υπόστρωμα	bioMérieux
<i>Listeria</i>	ALOA Agar Petrifilm CHROMagar BioLumix	Θρεπτικό υπόστρωμα Αφυδατωμένο υπόστρωμα σε φιλμ Θρεπτικό υπόστρωμα Φθορισμό	bioMérieux 3M CHROMagar Neogen

^a MUG, 4-methylumbelliferyl-β-d-glucuronide; X-Gal, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-d-galactopyranoside.

Μέθοδοι που βασίζονται στην Ανοσολογία

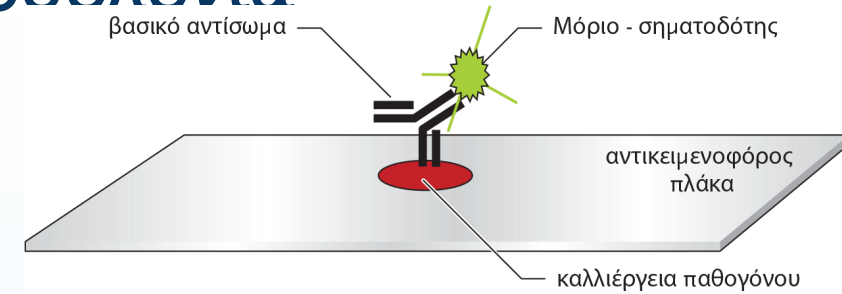


Οι δοκιμές της οροσυγγόλησης είναι κατάλληλες για τον έλεγχο ενός μικροοργανισμού στόχου. Σημειώστε τα σκούρα συσσωματώματα (βέλη) στις θέσεις που έχουν σημειωθεί O157 και H7. Η θέση του μάρτυρα είναι κενή από συσσωματώματα. Σε αυτή τη περίπτωση, η απομόνωση ήταν θετική και για τα δυο αντιγόνα.



Ανίχνευση ενός τροφογόνου μικροοργανισμού στόχου με άμεσες ανοσοδοκιμές.

Μέθοδοι που βασίζονται στην Ανοσολογία



Elisa: Κύριες Εφαρμογές στα Τρόφιμα

- **Ανίχνευση Αλλεργιογόνων:** Είναι η κύρια μέθοδος για τον εντοπισμό πρωτεϊνών που προκαλούν αλλεργίες, όπως στο γάλα, τα φιστίκια, τα αμύγδαλα, τα αυγά και τα καρύδια.
- **Έλεγχος Μυκοτοξινών:** Χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό τοξινών όπως η **αφλατοξίνη M1** στο γάλα.
- **Νοθεία Τροφίμων:** Ταυτοποίηση του είδους του κρέατος (π.χ. ανίχνευση χοιρινού σε βοδινό) ή έλεγχος της προέλευσης των πρώτων υλών.
- **Διαγνωστικό Έλεγχος:** Μέτρηση αντισωμάτων (IgE/IgG) στον ορό του ασθενούς για τη διάγνωση τροφικών αλλεργιών και δυσανεγιών.

Πίνακας 5.3 Αντιπροσωπευτικός κατάλογος των δοκιμών που βασίζονται στην ανοσολογία

Μικροοργανισμός	Εμπορική ονομασία	Ανάλυση ^a	Κατασκευαστής
Βακτήρια, σπόρια, ζύμες, μύκητες	ScanRDI	ELFA	bioMérieux
<i>E. coli</i> ^β	Reveal 2.0	Ab-ppt	Neogen
	Alert	ELISA	Neogen
	<i>E. coli</i> O157	LA	Unipath
	VIDAS/miniVIDAS	ELFA	bioMérieux
	Assurance EIA	S-ELISA	BioControl
	Premier O157	ELISA	Meridian
	ImmunoCard STAT	Ab-ppt	
	VIP Glod	Ab-ppt	
	TRANSIA	ELISA	Biocontrol
	TECRA VIA	ELISA	
	Dryspot	LA	3M
Wellcolex	LA	Remel	
<i>E. coli</i> O157:H7	DETEX	ELISA	Molecular Circuitry Inc.
<i>Salmonella</i> spp.	Reveal 2.0	Ab-ppt	Neogen
	Alert	ELISA	
	VIDAS/miniVIDAS	ELFA	bioMérieux
	1-2 Test	Diffusion	BioControl
	Assurance <i>Salmonella</i> EIA	S-ELISA	BioControl
	VIP Gold	Ab-ppt	BioControl
	Assurance Gold <i>Salmonella</i> EIA	ELISA	BioControl
	TRANSIA	ELISA	BioControl
	TECRA VIA	ELISA	3M
	DETEX	ELISA	Molecular Circuitry Inc.
	Wellcolex	LA	Remel

Συνεχίζεται...

<i>Listeria</i>	Reveal	ELISA	Neogen
<i>Listeria monocytogenes</i>	VIP Gold	Ab-ppt	BioControl
<i>Campylobacter</i>	Assurance EIA	S-ELISA	
	TRANSIA	ELISA	3M
	TECRA VIA	ELISA	Molecular Circuitry Inc.
	DETEX	ELISA	bioMérieux
	VIDAS/miniVIDAS	ELFA	Molecular Circuitry Inc.
	DETEX	ELISA	BioControl
	Assurance EIA	S-ELISA	Neogen
	Alert	ELISA	
	Uni-Lite XCEL	ELISA	bioMérieux
	VIDAS	ELFA	BioControl
	VIP Glod	Ab-ppt	Meridian
	Premier CAMPY	ELISA	
	ImmunoCard STAT	Ab-ppt	Molecular Circuitry Inc.
	DETEX	ELISA	3M
TECRA VIA	ELISA		
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Agri-Screen	S-ELISA	Neogen
<i>Pseudomonas</i>	TECRA VIA	ELISA	3M
<i>S. aureus</i>	Staphyloslide	LA	Becton Dickinson
	Staphlatex	LA	Difco
	TECRA VIA	ELISA	3M
	Staphaurex	LA	Remel
	BactiStaph	LA	

^a EIA, ενζυμική ανοσοδοκιμή, S-ELISA, sandwich ELISA, Ab-ppt, καθίζηση αντιγόνου, ELFA, ενζυμοσύνδετη φθορίζουσα μέθοδος, LA, συσσωμάτωση (αντιγόνου-αντισώματος) σε latex.

^β EHEC, εντεροαιμμοραγική *E. coli*.

Πίνακας 5.4 Αντιπροσωπευτικές ταχείες μέθοδοι που βασίζονται σε νουκλεϊκά οξέα

Μικροοργανισμός	Σύστημα	Μέθοδος Ανάλυσης	Κατασκευαστής
<i>Salmonella</i>	PCR- Light Cycler foodproof Gene-Trak BAX X5 Molecular Detection System NeoSeek ANSR GeneQuence NEO-GRID Assurance GDS	PCR- ELISA PCR Βιοαισθητήρας PCR Ισοθερμική τεχνολογία Βιοαισθητήρας Ισοθερμική τεχνολογία Βιοαισθητήρας HGMP Ανοσομαγνητικός διαχωρισμός και βιοαισθητήρας	Biotecon Diagnostics Gene- Trak DuPont 3M Neogen BioControl
<i>E. coli</i> O157	BAX X5 Molecular Detection System	PCR Ισοθερμική τεχνολογία	DuPont 3M
<i>E. coli</i>	Gene- Trak	Βιοαισθητήρας	Gene- Trak
<i>L. monocytogenes</i>	GeneQuence NEO-GRID NeoSeek Assurance GDS foodproof PCR- Light Cycler Gene- Trak Molecular Detection System	Βιοαισθητήρας HGMP Βιοαισθητήρας Ανοσομαγνητικός διαχωρισμός και βιοαισθητήρας PCR PCR- ELISA Βιοαισθητήρας Ισοθερμική τεχνολογία	Neogen BioControl Biotecon Diagnostics Biotecon Diagnostics Gene- Trak 3M
<i>Listeria</i> spp.	BAX X5 Assurance GDS ANSR GeneQuence NEO-GRID	PCR Ανοσομαγνητικός διαχωρισμός και βιοαισθητήρας Ισοθερμική τεχνολογία Βιοαισθητήρας HGMP	DuPont BioControl Neogen
<i>Campylobacter</i>	Gene-Trak foodproof	Βιοαισθητήρας PCR	Gene-Trak Biotecon Diagnostics
<i>S. aureus</i>	Gene-Trak foodproof	Βιοαισθητήρας PCR	Gene-Trak Biotecon Diagnostics

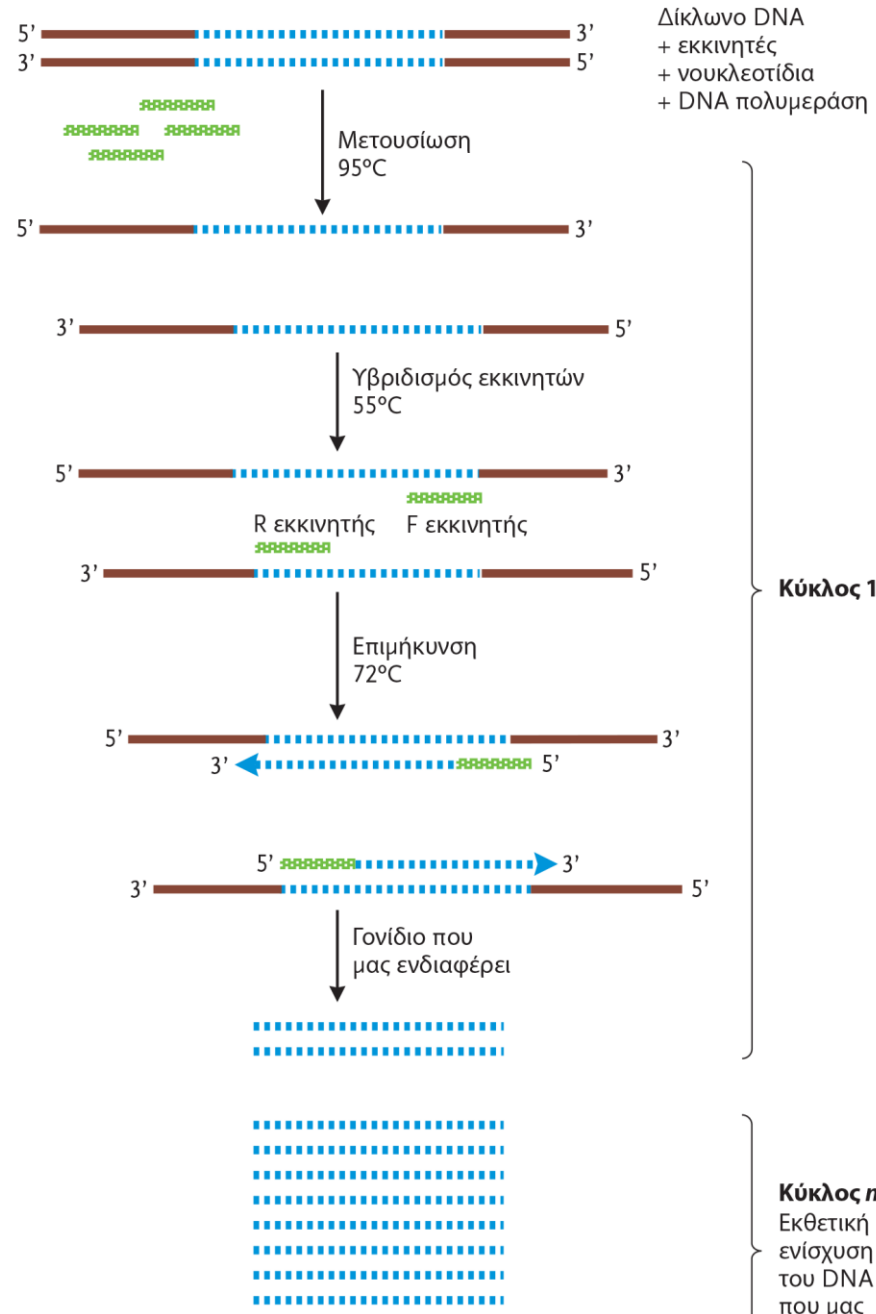
Μοριακές μέθοδοι

Η Επιλογή μεθόδου ανίχνευσης εξαρτάται από:

- ✓ PCR, qPCR
- ✓ Pulse field gel electrophoresis
- ✓ Ribotyping
- ✓ Plasmid typing
- ✓ Randomly amplified polymorphic DNA
- ✓ Loop mediated isothermal amplification –LAMP
- ✓ RFLP

Αναπαράσταση ενός κύκλου PCR

Αναπαράσταση ενός κύκλου PCR. Αρχικά η δίκλωνη μήτρα DNA (από κάποιο μικρόβιο) σπάει για να δημιουργήσει δύο μονόκλινα κομμάτια DNA. Εκκινητές που έχουν σχεδιαστεί για την επέκταση μιας συγκεκριμένης περιοχής της μήτρας DNA αφήνονται να προσδεθούν στο μονόκλινο DNA. Με την επιμήκυνση και την επέκταση των εκκινητών δημιουργείται ένα συμπληρωματικό αντίγραφο του μήτρας DNA. Αυτά τα τρία βήματα αποτελούν έναν μονό κύκλο. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για ένα συγκεκριμένο αριθμό κύκλων.



Αξιολόγηση του ρόλου των μικροβιολογικών κριτηρίων για τρόφιμα και συστατικά τροφίμων

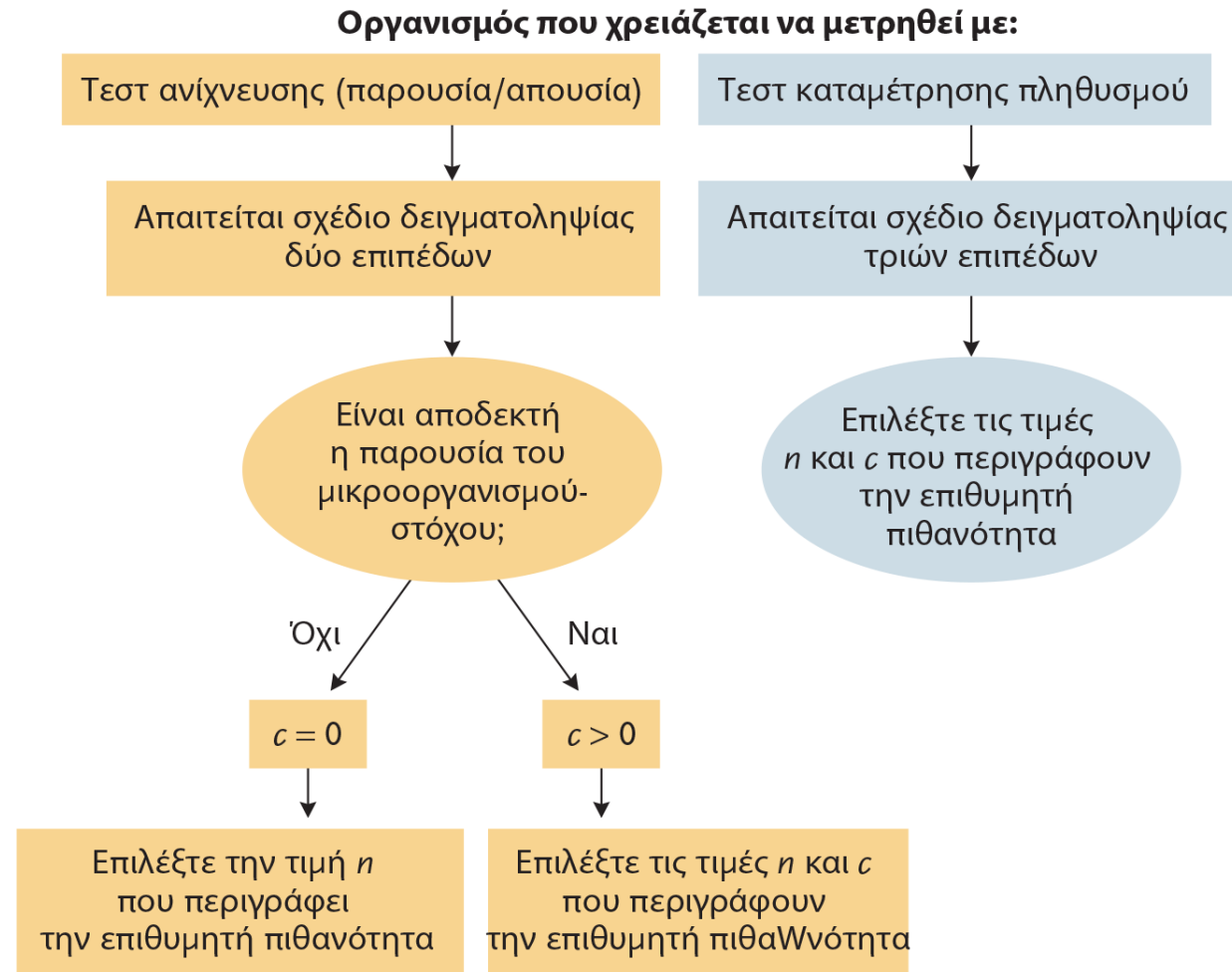
Το μικροβιολογικό κριτήριο θα πρέπει να δηλώνει ποιος μικροοργανισμός ή ομάδα μικρ. ή τοξίνη είναι, κατά πόσο απαντάται ευρέως ή σε συγκεκριμένα τρόφιμα ή συστατικά.

Επίσης το μικροβιολογικό κριτήριο θα πρέπει να περιλαμβάνει τις παρακάτω πληροφορίες:

1. Περιγραφή της ταυτότητας του τροφίμου
2. Ταυτοποίηση του μολυσματικού παράγοντα
3. Την αναλυτική μέθοδο για την ανίχνευση, απαρίθμηση ή ποσοτικοποίηση κάθε μολυσματικού στοιχείου
4. Δειγματοληπτικό σχέδιο
5. Τα μικροβιολογικά όρια που κρίνονται κατάλληλα για το τρόφιμο και μετριοούνται με το δειγματοληπτικό σχέδιο.

Τρεις κατηγορίες κριτηρίων: Κανονισμός, Οδηγία, Προδιαγραφή.

Τύποι Δειγματοληπτικών Σχεδίων



Οδηγός για την επιλογή ενός κατάλληλου σχεδίου δειγματοληψίας.

Μικροοργανισμοί Δείκτες

Πίνακας 6.1 Μικροβιακές αλλοιώσεις των τροφίμων

Προϊόν	Ελάττωμα	Μικροοργανισμός
Χυμοί φρούτων	Αλκοόλη	Ζύμες
Ψωμί, κέικ	Μούχλα	Μύκητες
Κρέας	Σήψη (οσμή χαλασμένου αυγού)	Κλωστρίδια
Αυγά, γάλα	Οσμή πατάτας	<i>Pseudomonas</i>
Χυμός	Γλοιώδη δυσάρεστη υφή	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Βερίκοκα	Μαλάκωμα	<i>Rhizopus stolonifer</i>
Μπέικον	Οξίνηση	<i>Lactobacillus</i>
Γαρίδες	Δυσοσμία	<i>Pseudomonas</i>
Γάλα (που βρίσκεται στο ψυγείο)	Οξίνηση	Lactic acid bacteria
Γιαούρτι	Γεύση ζύμης	<i>Torulopsis</i>

Προϊόντα Δείκτες

Πίνακας 6.2 Ορισμένα μεταβολικά προϊόντα που σχετίζονται με τη ποιότητα των τροφίμων

Μεταβολίτες	Εφαρμόσιμα προϊόντα τροφίμων
Καδαβερίνη	Ζυμούμενα λουκάνικα
Διακέτυλο	Κατεψυγμένος συμπυκνωμένος χυμός
Αιθανόλη	Χυμός μήλου, προϊόντα αλιείας
Ισταμίνη	Κονσερβοποιημένος τόνος και σολωμός
Πουτρεσκίνη	Κονσερβοποιημένα λαχανικά, χυμός ξινολάχανου
Τριμεθυλαμίνη (TMA)	Ψάρια
Ολικές πτητικές βάσεις (TVB), ολικό πτητικό άζωτο (TVN)	Θαλασσινά
Πτητικά λιπαρά οξέα	Βούτυρο, κρέμα

Πίνακας 6.3 Η αυστηρότητα του σχεδίου (περίπτωση επικινδυνότητας) σε σχέση με το βαθμό του κινδύνου για την υγεία και της συνθήκης χρησιμοποίησής του^α

Δείκτες Τροφογενών Παθογόνων και Τοξινών

Τύπος κινδύνου. Βαθμός ανησυχίας σχετικά με την χρήση και το κίνδυνο για την υγεία	Αναμενόμενες συνθήκες χειρισμού και κατανάλωσης τροφίμου μετά τη δειγματοληψία, σύμφωνα με τις συνήθειες διαδικασίες. ^β		
	Μη άμεσος κίνδυνος για την υγεία	Αυξημένη διάρκεια ζωής προϊόντος	Καμία αλλαγή
Γενικότερη μόλυνση, μειωμένη διάρκεια ζωής στο ράφι και αλλοίωση	Περίπτωση 1 Κατηγορία 3 n = 5, c = 3	Περίπτωση 2 Κατηγορία 3 n = 5, c = 2	Περίπτωση 3 Κατηγορία 3 n = 5, c = 1
Κίνδυνος για την υγεία	Μειωμένος κίνδυνος	Καμία αλλαγή	Αυξημένος κίνδυνος
Δείκτης: Χαμηλός, μη άμεσος κίνδυνος	Περίπτωση 4 Κατηγορία 3 n = 5, c = 3	Περίπτωση 5 Κατηγορία 3 n = 5, c = 2	Περίπτωση 6 Κατηγορία 3 n = 5, c = 1
Μέτριος κίνδυνος: άμεση περιορισμένη εξάπλωση	Περίπτωση 7 Κατηγορία 3 n = 5, c = 2	Περίπτωση 8 Κατηγορία 3 n = 5, c = 1	Περίπτωση 9 Κατηγορία 3 n = 5, c = 0
Σοβαρός κίνδυνος: συνήθως δεν αποτελεί κίνδυνο για τη ζωή	Περίπτωση 10 Κατηγορία 2 n = 5, c = 0	Περίπτωση 11 Κατηγορία 2 n = 10, c = 0	Περίπτωση 12 Κατηγορία 2 n = 20, c = 0
Δριμύς κίνδυνος: Απειλή για την ζωή του γενικού πληθυσμού, ή περιορισμένου πληθυσμού	Περίπτωση 13 Κατηγορία 2 n = 15, c = 0	Περίπτωση 14 Κατηγορία 2 n = 30, c = 0	Περίπτωση 15 Κατηγορία 2 n = 60, c = 0

^α Βασίζεται στη Διεθνή Επιτροπή για τις Μικροβιολογικές Προδιαγραφές στα Τρόφιμα, Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management, Springer Science, New York, NY, 2002.

^β n - ο αριθμός των μονάδων δείγματος που λαμβάνονται από μια παρτίδα, c - ο μέγιστος επιτρεπτός αριθμός θετικών αποτελεσμάτων.

Δριμείς (severe) κίνδυνοι: απειλή για τη ζωή για τον γενικό πληθυσμό

Εντεροαιμορραγική *Escherichia coli* (EHEC)
Shigella dysenteriae I
Salmonella enterica ορότυποι Typhi και Paratyphi
Vibrio cholerae O1
Brucella abortus, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*
Botulinal neurotoxin

Δριμείς κίνδυνοι: απειλή για τη ζωή για συγκεκριμένες ομάδες πληθυσμού

Hepatitis A virus
Vibrio vulnificus
Listeria monocytogenes
Enterotoxigenic E.coli
Cryptosporidium parvum
Campylobacter jejuni ορότυπος O:19
Enterobacter sakazakii (Cronobacter sp.)

Σοβαροί (serious) κίνδυνοι: προκαλούν σοβαρή ασθένεια, χωρίς να είναι απειλητικοί για την ζωή

Yersinia enterocolitica
Cyclospora cayetanensis
Salmonella enterica ορότυπος Enteridis
Shigella flexneri
Cryptosporidium parvum
Ochratoxin A

Μέτριοι (moderate) κίνδυνοι : μη απειλητικοί για την ζωή (προκαλούν ήπια ασθένια)

Bacillus cereus
Clostridium perfringens
Staphylococcus enterotoxis (*Staphylococcus aureus*)
V. cholerae, μη O1
Vibrio parahaemolyticus
Βιογενείς αμίνες (π.χ ισταμίνη)

^α Βασίζεται στη Διεθνή Επιτροπή για τις Μικροβιολογικές Προδιαγραφές στα Τρόφιμα, *Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management*, Springer Science, New York, NY, 2002.

Πίνακας 6.5 Μικροβιολογικά κριτήρια για τη *Listeria monocytogenes* σε RTE τρόφιμα^α

Χώρες	Όρια (ανά g)				
	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	
Ηνωμένες Πολιτείες	5	0	0 (αρνητικό/25g)		
Ηνωμένο Βασίλειο		5	100		
Καναδάς					
Κατηγορία 1,2	5	0	0 (0/25g)		
Κατηγορία 3	5	0	100		
Γερμανία			10000		

^α Βασίζεται στη Διεθνή Επιτροπή για τις Μικροβιολογικές Προδιαγραφές στα Τρόφιμα, *Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management*, Springer Science, New York, NY, 2002.

Πίνακας 6.6 Παραδείγματα διαφόρων προϊόντων τροφίμων για τα οποία έχουν καθοριστεί συμβουλευτικά μικροβιολογικά κριτήρια

Κατηγορία προϊόντος	Μικροοργανισμοί που ελέγχονται	Υποθέσεις (Cases)	Επίπεδο σχεδίου	Όρια (ανά g)			
				n	c	m	M
Ωμό κοτόπουλο	Αερόβια Ολική Μικροχλωρίδα (ΟΜΧ)	1	3	5	3	5×10^5	10^7
Μαγειρεμένα πουλερικά, κατεψυγμένα, έτοιμα προς κατανάλωση	<i>S.aureus</i>	8	3	5	1	10^3	10^4
Μαγειρεμένα πουλερικά, κατεψυγμένα, προθερμασμένα	<i>S.aureus</i>	8	3	5	1	10^3	10^4
	<i>Salmonella</i>	10	2	5	0	0	
Σοκολάτα ή είδη ζαχαροπλαστικής	<i>Salmonella</i>	11	2	10^B	0	0	
Αποξηραμένο γάλα	Αερόβια Ολική Μικροχλωρίδα	2	3	5	2	3×10^4	3×10^5
	<i>Coliforms</i>	5	3	5	1	10	10^2
	<i>Salmonella</i> ^γ	10	2	5	0	0	
		11	2	10	0	0	
		12	2	20	0	0	
	<i>Salmonella</i> ^γ (πληθυσμός υψηλού κινδύνου)	10	2	15	0	0	
		11	2	30	0	0	
12	2	60	0	0			
Μαλακά τυριά ^δ	<i>S. aureus</i>			5	2	10^2	10^3
	<i>Coliforms</i>			5	2	10^2	10^3

Συνεχίζεται...

Παστεριωμένα υγρά, κατεψυγμένα και αποξηραμένα προϊόντα αυγών	Αερόβια Ολική Μικροχλωρίδα <i>Coliforms</i>	2	3	5	2	5 x 10 ⁴	
	<i>Salmonella</i> ^γ (αναλύσεις ρουτίνας)	5	3	5	2	10 ³	
		10	2	5	0	0	10 ⁶
		11	2	10	0	0	
		12	2	15	0	0	
			10	2	15	0	0
	<i>Salmonella</i> ^β (πληθυσμός υψηλού κινδύνου)	11	2	30	0	0	
		12	2	60	0	0	
Φρέσκα και κατεψυγμένα ψάρια, που πρόκειται να μαγειρευτούν πριν καταναλωθούν	Αερόβια Ολική Μικροχλωρίδα	1	3	5	3	5 x 10 ³	10 ⁷
	<i>E. coli</i>		4		3	11	
	<i>Salmonella</i> ^ε	10	2	5	0	0	500
	<i>Vibrio parahaemolyticuse</i>	7	3	5	2	10 ²	10 ³
	<i>S. aureus</i> ^ε						
Στην περίπτωση που επίκειται αύξηση κατά τη συντήρηση	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴	
		12	2	20	0	0	

^α Το προϊόν μαγειρεύεται, δεν είναι ψητό βόειο κρέας

^β Η αναλυτική μονάδα των 25g μπορεί να συντεθεί

^γ Η περίπτωση πρέπει να επιλεγεί με βάση το εάν ο κίνδυνος αναμένεται να μειωθεί, να παραμείνει αμετάβλητος ή να αυξηθεί.

^δ Απαιτήσεις μόνο για το φρέσκο και μαλακό τυρί από παστεριωμένο γάλα

^ε Για ψάρια που είναι γνωστό ότι προέρχονται από παράκτια ή εσωτερικά ύδατα αμφίβολης βακτηριολογικής ποιότητας ή όπου τα ψάρια πρέπει να τρώγονται ωμά, μπορεί να είναι επιθυμητές πρόσθετες δοκιμές.

Πίνακας 6.7 Μικροβιολογικά κριτήρια διαφόρων προϊόντων στο Hong Kong.

Κατηγορία προϊόντος	Παράμετροι ελέγχου	Όρια			
		<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>M</i>
Φυσικό μεταλλικό νερό	<i>E. coli</i>	Μη ανιχνεύσιμη στα 250ml			
Βρεφικό γάλα σε σκόνη	<i>Cronobacter sakazakii</i>	30	0	Μη ανιχνεύσιμος ανά 10g	
	<i>Salmonella</i>	60	0	Μη ανιχνεύσιμος ανά 25g	
Μπαχαρικά (έτοιμα προς κατανάλωση)	<i>Salmonella</i>	10	0	Μη ανιχνεύσιμος ανά 25g	
Ωμά μαλάκια	<i>E. coli</i>	5	1	230 MPN/ 100g	700 MPN /100g

Πίνακας 6.8 Παραδείγματα διαφόρων προϊόντων τροφίμων για τα οποία έχουν θεσπιστεί υποχρεωτικά μικροβιολογικά κριτήρια

Κατηγορία προϊόντος	Παράμετρος ελέγχου	Σχόλια
Ηνωμένες Πολιτείες		
Γαλακτοκομικά προϊόντα		
Ακατέργαστο γάλα	Αερόβια βακτήρια	Υποδείξεις της Υπηρεσίας Δημόσιας Υγείας των ΗΠΑ
Παστεριωμένο γάλα Α' βαθμού	Αερόβια βακτήρια Κολοβακτηριοειδή	Υποδείξεις της Υπηρεσίας Δημόσιας Υγείας των ΗΠΑ
Παστεριωμένο ζυμούμενο γάλα Α' βαθμού	Αερόβια βακτήρια Κολοβακτηριοειδή	Υποδείξεις της Υπηρεσίας Δημόσιας Υγείας των ΗΠΑ
Ξηρό γάλα (πλήρες)	ΟΜΧ ^α Κολοβακτηριοειδή	Υποδείξεις της Υπηρεσίας Δημόσιας Υγείας των ΗΠΑ
Ξηρό γάλα (χωρίς λιπαρά)	ΟΜΧ Κολοβακτηριοειδή	Κανονισμοί της Αμερικανικής Υπηρεσίας Marketing (USDA)
Κατεψυγμένα επιδόρπια	ΟΜΧ Κολοβακτηριοειδή	Υποδείξεις της Υπηρεσίας Δημόσιας Υγείας των ΗΠΑ
Άμυλο και σάκχαρα	Ολική απαρίθμηση θερμοφίλων σπορίων Σπόρια επίπεδης οξίνισης Θερμόφιλα αναερόβια σπόρια Αλλοιογόνα θειοαναγωγικά σπόρια	Εθνικός Όμιλος Κονσερβοποιών (Εθνικός Όμιλος Εταιριών Επεξεργασίας Τροφίμων)
Παναρισμένες γαρίδες	ΟΜΧ <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Οδηγός συμμόρφωσης με την πολιτική της Διαχείρισης Τροφίμων και Φαρμάκων

Διεθνώς

Καζεΐνες και καζεϊνικά άλατα	ΟΜΧ Θερμόφιλοι οργανισμοί Κολοβακτηριοειδή	Ευρώπη
Φυσικά μεταλλικά νερά	ΟΜΧ Κολοβακτηριοειδή <i>E. coli</i> Κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι Θειοαναγωγικά αναερόβια σπορογόνα <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , παράσιτα και παθογόνοι οργανισμοί	<i>Codex Alimentarius</i>
Ζεστά γεύματα που προσφέρονται από αεροπορικές εταιρείες	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>B. cereus</i> <i>C. perfringens</i> <i>Salmonella</i>	Ευρώπη
Τοματοχυμός	Απαρίθμηση μούχλας	Καναδάς
Πρωτεΐνη ψαριού	ΟΜΧ <i>E. coli</i>	Καναδάς
Ζελατίνη	ΟΜΧ Κολοβακτηριοειδή <i>Salmonella</i>	Καναδάς

^a ΟΜΧ, ολική μεσόφιλη χλωρίδα